

氏 名	鵜 家 綾 香
学位(専攻分野の名称)	博 士 (国際農業開発学)
学 位 記 番 号	甲 第 719 号
学 位 授 与 の 日 付	平成 28 年 3 月 20 日
学 位 論 文 題 目	東アフリカ産 <i>Rice yellow mottle virus</i> の性状解析および 検出法の開発
論 文 審 査 委 員	主査 教 授・農 学 博 士 夏 秋 啓 子 教 授・博 士 (農 学) 高 根 務 客員教授・博士(生物環境調節学) 眞 岡 哲 夫 農 学 博 士 池 田 良 一*

## 論文内容の要旨

近年、アフリカにおいて稲作が拡大しているが、*Rice yellow mottle virus* (RYMV) による被害が大きい。本研究では RYMV 防除を目的とし、東アフリカのウガンダおよびタンザニアを対象に、ウガンダにおける発生調査、ウガンダ産およびタンザニア産 RYMV の系統解析、伝搬経路の検討、および、検出用ペプチド抗体の開発を行った。

ウガンダ東部で行った発生調査では、稲作地帯での RYMV 蔓延を認め、さらに実験圃場における日本品種コシヒカリでの自然発病例を発見し、感染が確認された。この結果より、アフリカ稲作地帯での防除の必要性のみならず、現在はアフリカのみに発生している RYMV であるが、アジアの稲作地帯への侵入を警戒すべきであることを示した。

ウガンダおよびタンザニア分離株の塩基配列解析では、両分離株とも既報の東アフリカ各国由来の分離株およびマダガスカル分離株と高い相同性を示した。一方で、採集地によって特異なアミノ酸変異が見られたことから、高い相同性の中にも、わずかであるが地域による特異性があることを示した。系統学的解析では、ウガンダ分離株は、S4-ug 遺伝子型および、S4-mg 遺伝子型に、タンザニア分離株は既報の S4 分離株とは異なるキリマンジャロ山付近を由来とする S4-mk 遺伝子型（新称）を形成していた。ウガンダ分離株と異なり、タンザニア分離株は、S4 だけでなく、S5、S6 に属する分離株が報告されており、多様性に富むことが知られているが、本研究で解析したタンザニア分離株が新たな遺伝子型を形成していたことにより、改めてタンザニアにおける RYMV の遺伝的多様性が示された。

血清型については、従来のようにモノクローナル抗体

による判定ではなく、外被タンパク質 (CP) 領域アミノ酸配列の解析により推定したところ、タンザニア分離株、ウガンダ分離株は、既往の Ser 4 に分類されている分離株と同じ配列を示し、血清型は Ser 4 であると判定された。このことから、入手困難なモノクローナル抗体を用いる必要はなく、特定領域のアミノ酸配列で RYMV の血清型を推定する方法を採用できる可能性を示した。

RYMV はハムシによる半永続伝搬および接触伝搬するが、本研究では、人工的に RYMV 汚染させた水、土壌、ハサミを介した伝搬に加えて、バクダ類の汚染口器を介したと考えられる伝搬も認めた。これにより、農機具、土壌、水、さらに、ハムシ以外の昆虫による RYMV の伝搬可能性を示し、本研究の結果を踏まえた耕種的防除の必要性を示した。

簡易検出法として、FTA<sup>®</sup> カードを用いた RYMV の RNA 抽出を行ったところ、イネウイルスで初めての成功例となった。また、迅速免疫濾紙検定法 (RIPA 法) の利用を RYMV では初めて検討し、検出技術の改良のため Thermo 社製ラテックス粒子の新たな採用と RYMV に最適化した抗体濃度の決定により、検出に成功した。加えて、CP 領域のアミノ酸配列からペプチド抗体を作成し、各種血清学的手法での利用可能性を示した。ペプチド抗体の二次抗体利用すれば、健全イネ葉での非特異反応が軽減され、より実用性が上がることを示した。植物ウイルスでは例の少ないペプチド抗体作成に RYMV でも初めて成功し、抗体の安定供給に道を開いた。

以上より、本研究では、東アフリカ産 RYMV について、植物ウイルス学的に重要な新知見に加えて、防除や診断について有用な新知見や手法を示した。

\* JAICAF 技術参与

## 審査報告概要

本研究では RYMV 防除を目的とし、ウガンダにおける発生調査、系統解析、伝搬経路の検討および、検出用ペプチド抗体の開発を行った。ウガンダの稲作地域で RYMV の蔓延を確認し、ウガンダおよびタンザニア分離株の塩基配列の解析では、既報の東アフリカ産 RYMV 分離株と高い相同性を認めた。さらに、従来のモノクローナル抗体を用いる方法ではなく、外被タンパク質領域のアミノ酸配列の解析により血清型の推定を行い、タンザニアおよびウガンダ分離株の血清型を Ser 4 と推定した。また、RYMV に汚染した水、土壌および

ハサミや、バッタ類などによる伝搬を認めた。ペプチド抗体を RYMV では初めて作成し、ELISA 法、Western blot 法、DIBA 法での利用可能性を示して検出技術を改良した。本研究では、東アフリカ産 RYMV について植物ウイルス学的新知見を得たのみならず、その知見に基づいて防除や診断についての情報を提供するに至った。

よって、審査員一同は博士（国際農業開発学）の学位を授与する価値があると判断した。